

выращивании на растворе с азотом в нитратной форме при интенсивности ФАР 150 Вт/м² (опыт 2.1) интенсивность $P_{\text{вид}}$ составила 26 % от значения до ТШ, а при 250 Вт/м² (опыт 2.2.) – стала на 40 % выше исходного значения (рис.1).

Библиографический список

1. *Замкнутая система: человек – высшие растения* / Под ред. Г.М. Лисовского. Новосибирск: Наука, 1979. С. 50-51.
2. Ushakova S., Tikhomirov A., Shikhov V., Kudenko Yu., Anischenko O., Gros J.-B., Lasseur Ch. Increased BLSS closure using mineralized human waste in plant cultivation on a neutral substrate // *Advances in Space Research*. 2009. V.44. N 8. P. 971-978.

**ЦИТОКИНИН-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК
*SYNECHOCYSTIS SP. PCC 6803***

**Н.Н. Каравайко, Г.В. Шевченко, С.Ю. Селиванкина, Н.К. Зубкова,
Е.В. Куприянова, Д.А. Лось, В.В. Кузнецов, О.Н. Кулаева**

*Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им.
К.А.Тимирязева РАН, Москва. E-mail: okulaeva@mail.ru*

Одним из важнейших гормонов растений является цитокинин. Известно, что в передаче цитокининового сигнала участвует мембранный рецептор, представляющий собой гистидиновую киназу, которая воспринимает цитокининовый сигнал, поступающий в клетку извне, и передает его с помощью фосфатного каскада в ядро для регуляции экспрессии генов. Цитокинины обнаружены в различных компартментах клетки. Это предполагает возможность существования внутриклеточных рецепторов этого гормона. Такую функцию могут выполнять выделенные нами ранее цитокинин-связывающие белки 67кДа, которые в комплексе с цитокинином участвуют в регуляции транскрипции. Эти белки были выделены из цитозоля, ядер и хлоропластов ряда однодольных и двудольных растений.

Известно, что цианобактерии рассматриваются в качестве эволюционных предшественников хлоропластов растений, биогенез которых регулируется фитогормонами, в частности цитокинином и абсцизовой кислотой. Ранее было показано, что в клетках *Synechocystis sp. PCC 6803* присутствуют физиологически активные цитокинины в количествах, сопоставимых с их содержанием в высших растениях, что позволяет предполагать наличие элементов гормональной системы у цианобактерий. Данных о присутствии гормон-связывающих белков в *Synechocystis sp. PCC 6803* в литературе не было.

Мы попытались выделить и идентифицировать цитокинин-связывающие белки из цианобактерии *Synechocystis sp. PCC 6803*, первичная

последовательность генома которой в настоящее время полностью определена.

Выделение цитокинин-связывающих белков (ЦСБ) проводили, используя сложную многоступенчатую систему очистки и разделения белков, включающую гидрофобную хроматографию на фенил-сефарозе и аффинную хроматографию на колонке с зеатин-рибозидом. Кроме того, в данной работе мы использовали новый подход для фракционирования белков на приборе Rotofor (Bio-Rad, США) методом изоэлектрического фокусирования нативного белка в растворе, который позволяет дополнительно разделить и очистить белки.

Идентификация ЦСБ проводилась с помощью полученных нами антиидиотипических антител (АТа-и) к цитокинину, которые фактически являются антителами к рецептору гормона. Белки, связывающиеся с АТа-и, не взаимодействовали в наших опытах с преиммунной сывороткой и АТ, полученными к зеатину, что говорит о высокой специфичности взаимодействия ЦСБ с АТа-и. Исследование белков в одномерном и двумерном электрофорезе с последующим иммуноферментным анализом показало, что белок, реагирующий с АТа-и обладает молекулярной массой 67 кДа.

Белок, полученный после двумерного электрофореза в денатурирующих условиях, который взаимодействовал с АТа-и исследовали далее методом MALDI масс-спектрометрии. Поиск соответствия пептидов проводили с использованием поисковой системы Mascot (www.matrixscience.com) в доступной базе данных NCBI для *Synechocystis sp. PCC 6803*. Анализ показал, что интересующий нас белок относится к ранее неизученным белкам. ЦСБ 67 кДа активировал в присутствии транс-зеатина тотальную транскрипцию *in vitro* в системе, содержащей лизированные клетки цианобактерий и транскрипционной системе хлоропластов листьев ячменя. Это позволяет предполагать, что он является фактором транскрипции или белком, модифицирующим фактор транскрипции.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта НШ-915.2008.4, а также гранта РФФИ № 08-04-00739.